

Die Bedeutung der
energiereichen Phosphatbindungen und die
Beeinflussung ihrer Bildung durch
Biokatalysatoren am ermüdeten Froschherzen

von

GERD JÜTTING

Aus dem physiologisch-chemischen Institut der
Universität München

Vorstand: Professor Dr.phil. Dr.med.h.c. Dr.med.vet.h.c.
Dr.rer.nat.h.c. A. Butenandt

Die Bedeutung der energiereichen Phosphatbindungen
und die Beeinflussung ihrer Bildung durch Biokataly-
satoren am ermüdeten Froschherzen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfasst und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München



vorgelegt
von
Gerd Jütting

aus
Gleschendorf
1957

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Professor Dr.ing. Dr.med. H. Niemer

Korreferent: Professor Dr. A. Butenandt

Dekan: Professor Dr. W. Bickenbach

Tag der mündlichen Prüfung: 1. 8. 1957

Meiner lieben Mutter gewidmet

An dieser Stelle gestatte ich mir, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Dr. H. N i e m e r, für die Unterstützung und Förderung meiner Arbeit sowie das mir jederzeit entgegengebrachte Wohlwollen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Ferner danke ich Herrn Dr. O. Scheibe für die zahlreichen Anregungen und Hinweise zu meiner Arbeit.

Inhaltsangabe

	Seite
Vorwort	1
Hauptteil A	
Einleitung	3
Struktur der Adenosintriphosphorsäure	3
Die energiereichen Bindungen	5
Die Bildung der energiereichen Bindungen und deren weiteres Schicksal	9
Die Bildung der Adenosintriphosphorsäure	11
Der Begriff Substrat- bzw. Atmungsketten- phosphorylierung	12
Die Substratphosphorylierung	13
Die Atmungskettenphosphorylierung	16
A. Die Atmungskette	16
B. Die Phosphorylierungsvorgänge	20
Die Rolle der Adenosintriphosphorsäure im Stoffwechselgeschehen	25
Die Adenosintriphosphorsäure als Energie- träger bei der Muskelkontraktion	26
Der Phosphat-turn-over der Adenosintri- phosphorsäure	28
Zusammenfassung	31

	Seite
Hauptteil B	
Einleitung	32
Methodik	33
Vergleich des Froschherzpräparates mit dem Cyclophorase-System	35
Verbindungen und Lösungen	36
Ergebnisse	37
Versuch I	37
Versuch II	39
Versuch III	39
Versuch IV	40
Statistische Auswertung der Versuche	41
Diskussion der Versuchsergebnisse	42
Zusammenfassung	45
Pharmakologische Eigenschaften von Adenosin- triphosphorsäure, Adenosin und Fosfaton	46
Zusammenfassung	48

V o r w o r t

In der letzten Zeit ist mehrfach über Versuche berichtet worden, welche mit Biokatalysatoren durchgeführt wurden, die speziell in die Phosphorylierungsvorgänge eingreifen (73,74,75,76,77).

Im Rahmen dieser Arbeit wurden das Mononatriumsalz der Cyclohexenyl-oxymethylunterphosphorigen Säure (Fosfaton) und Adenosin auf ihre biokatalytische Wirkung untersucht. In einer kurzen Zusammenfassung wird nach der Strukturangabe der Adenosintriphosphorsäure zunächst auf den Begriff "energiereiche Bindung" sowie die Bildung einer solchen eingegangen, die Begriffe Atmungsketten- bzw. Substratphosphorylierung werden erläutert, die chemischen Vorgänge, die dabei ablaufen, dargelegt und sodann die Rolle der Adenosintriphosphorsäure im Stoffwechselgeschehen geschildert.

In einem zweiten experimentellen Teil wird die Methodik der Versuche beschrieben, es werden die verschiedenen Lösungen und Substanzen angeführt, die bei den Versuchen verwendet wurden.

Daran schliesst sich eine Darstellung der einzelnen Versuchsreihen an, die in Versuch I, II, III und IV zusammengefasst sind. Nach der statistischen Auswertung wird der Versuch einer Deutung der gewonnenen Ergebnisse unternommen. Dem folgt ein kurzer Hinweis

auf die experimentell gefundenen pharmakologischen Eigenschaften der auf ihre Stoffwechselwirksamkeit getesteten Substanzen.

Die Angaben über die verwendete Literatur befinden sich am Ende der Arbeit.

Hauptteil A

Einleitung

Im lebenden Organismus sind endergone und exergone Prozesse sinnvoll miteinander verknüpft. Für ihre mannigfachen Leistungen, Biosynthesen, osmotische, mechanische Arbeit in Form von Muskelkontraktionen usw., benötigt die Zelle Energie, die ihr von aussen in Gestalt von Nahrungsstoffen zugeführt werden muss. Die in diesen gespeicherte Energie wird von der Zelle im Verbrennungsprozess in eine Form überführt, in der sie frei transportierbar und verwendbar ist. Dazu bedient sich der Organismus der energiereichen Phosphatbindungen. Sein jederzeit frei verfügbares Energiepotential, durch das Energielieferung beim Nahrungsstoffabbau und die energieverzehrenden Vorgänge miteinander in Beziehung gesetzt werden, ist die Adenosintriphosphorsäure.

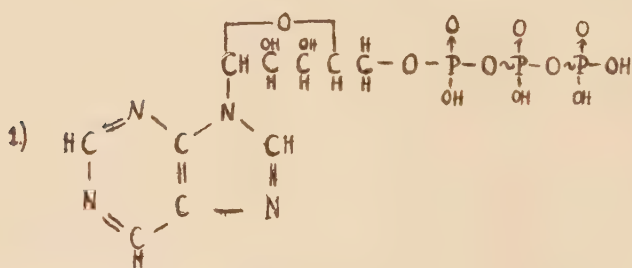
Die Struktur der Adenosintriphosphorsäure

Die Adenosintriphosphorsäure, im folgenden ATP genannt, wurde im Jahre 1929 gleichzeitig von Lohmann (1) sowie von Fiske und Subarow (2) entdeckt. In den sich im Laufe der folgenden Jahre anschlies-

senden Untersuchungen, die sich mit dieser neuen Verbindung beschäftigten, wurde deutlich, dass sie in fast allen ernsthaft darauf untersuchten Organen anzutreffen ist.

Die Strukturaufklärung der ATP und deren Zusammenhang mit der schon im Jahre 1927 von Embden und Zimmermann (3) gefundenen Adenosinmonphosphorsäure, im folgenden AMP genannt, sowie der ebenfalls durch Lohmann (4) erstmalig bei Behandlung eines Krebsmuskels mit ATP dargestellten und isolierten Adenosindiphosphorsäure, im folgenden ADP genannt, erfolgte durch Lohmann im Jahre 1935 (5).

Der ATP kommt nach Lohmann folgende Struktur zu:



Adenosintriphosphorsäure

ADP und AMP unterscheiden sich von der ATP nur darin, dass sie eine beziehungsweise zwei Phosphatgruppen weniger als ATP besitzen.

Die besondere Bedeutung der ATP für das Stoffwechselgeschehen des lebenden Organismus ergibt sich aus dem Vorhandensein von energiereichen Bindungen in ihrem Molekülverband.

Die energiereichen Bindungen

Der Begriff "energiereiche Bindung" wurde im Jahre 1941 von Lipmann (6) und Kalckar (7) entwickelt. Es wird davon ausgegangen, dass die freie Energie einer Verbindung, deren Grösse aus der nicht exakt messbaren Differenz $\pm \Delta F_0$, die bei einer Reaktion dieser Verbindung frei bzw. verbraucht wird, berechnet werden kann, nicht über das gesamte Molekül verteilt ist, sondern an bestimmten Stellen dieses Moleküls konzentriert ist. Durch diese Annahme wird es möglich, die dem Molekül innewohnende Energie in bestimmte Bindungen zu lokalisieren, die unter Verlust der freien Energie gespalten, bzw. unter Energieaufnahme gebildet werden können.

Nicht immer braucht die Auflösung einer energiereichen Bindung, für die Lipmann folgendes Symbol eingeführt hat (Abb.1), mit dem Verlust an freier Energie

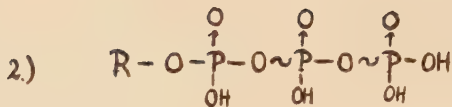
Abb.1.) 

Zeichen für energiereiche Bindung
(Lipmann)

verbunden zu sein. Es ist z.B. möglich, diese ohne wesentlichen Verlust an freier Energie auf andere geeignete chemische Verbindungen zu übertragen.

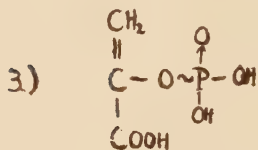
Die wichtigste Form der bei biologischen Vorgängen beteiligten energiereichen Bindungen ist die Bindung von Phosphat an verschiedene Substanzen; und zwar sind folgende bekannt geworden:

1. Pyrophosphate, Polyphosphate (beide organisch gebunden), anorganisches Pyrophosphat und Metaphosphat. Als deren Prototyp sei hier die Phosphatgruppierung der ATP angeführt. Man beachte die Lage der energiereichen Bindung!



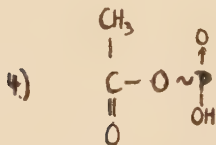
Phosphatgruppierung der ATP

2. Enolphosphat, wie es als Zwischenstufe bei der anaeroben Glykolyse auftritt



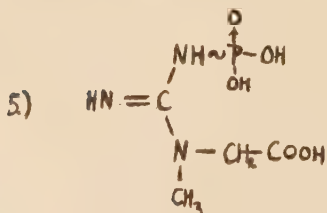
Phosphoenolbrenztraubensäure

3. Acetylphosphat



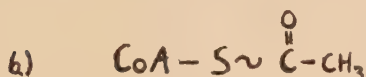
Acetylphosphat

4. Amidinphosphate, wie sie in Arginin- und Kreatinphosphat vorhanden sind. Als Beispiel sei Kreatinphosphat angeführt.



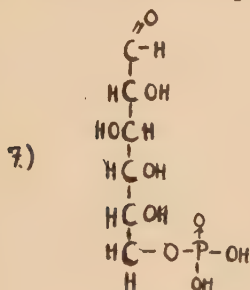
Kreatinphosphat

5. Als ein weiterer Typ energiereicher Bindungen seien hier die Thioester erwähnt, als deren wichtigster Vertreter die Thiogruppe des Coenzym A angeführt sei.



Acetyl-Coenzym A

Im Gegensatz zu diesen erwähnten energiereichen Phosphatbindungen, deren Hydrolysebetrag an freier Energie ungefähr $-\Delta F_0 = 10000 \frac{\text{cal}}{\text{Mol}}$ beträgt, stehen die sogenannten Esterphosphate, als deren Prototyp hier die Glukose-6-phosphorsäure angeführt sei.



Glukose-6-Phosphorsäure

Da die freie Energie einer Esterphosphatbindung $-\Delta F_0 = 3000 \frac{\text{cal}}{\text{Mol}}$ beträgt, kann z.B. beim Übergang einer energiereichen Phosphatbindung in eine Esterphosphatbindung, wie das bei der Phosphorylierung der Glukose durch ATP geschieht, ein Energiebetrag von $-\Delta F_0 = 7000 \frac{\text{cal}}{\text{Mol}}$ frei werden.

Die folgende Tabelle gibt Auskunft über den Energiegehalt verschiedener Phosphatbindungen.

Tab. 1

Reaktionswärme und freie Energie bei der Hydrolyse verschiedener Phosphatbindungen (nach Oesper). Aus Hoffmann-Ostenhoff, "Enzymologie" (Springer Verlag, Wien 1954)

Verbindung	- ΔH_0 der Hydrolyse bei p_H 7,0	- ΔF_0 der Hydrolyse
γ -Glycerophosphat	1 280 cal ³	2 200 cal ³ p_H 8,5 38° 2 600 cal p_H 5,8 38° 3 000 cal ³ p_H 8,5 38° 4 900 cal ³
Glucose-6-phosphat		3 000 cal ³ p_H 8,5 38°
Glucose-1-phosphat		2 650 cal ³ p_H 8,5 38°
Galactose-6-phosphat		2 790 cal ³ p_H 8,5 38°
Mannose-6-phosphat		3 000 cal ³ p_H 8,5 38°
Fructose-1-phosphat		3 000 cal ⁴ p_H 8,5 30°
Fructose-6-phosphat		4 050 cal ⁴ p_H 8,5 30°
3-Phosphoglycerinsäure		
2-Phosphoglycerinsäure		
<i>p</i> -Nitrophenylphosphat	4 530 cal ³	
Muskeladenylsäure (AMP)	1 550 cal ³	
Adenosintriphosphat (ATP) (terminaler Phosphat-rest)	12 500 cal ⁶ 12 000 cal ⁷	10 460 cal ¹ p_H 7,8 20°
Adenosindiphosphat (ADP)		wie ATP ⁶
Pyrophosphat	9 100 cal ³	wie ATP ⁷
Diphosphopyridinnucleotid (DPN)	13 000 cal ³	wie ATP ⁷
Phosphoenolbrenztraubensäure	8 500 cal ¹⁰	15 950 cal ¹¹ p_H 8,5 25° 4 300 cal über dem Wert für ATP ⁴ p_H 8,4 20°
Acetylphosphat	(8 000 cal) ¹¹	15 000? 37°
1,3-Diphosphoglycerinsäure		4 600 cal über dem Wert für ATP ¹³ p_H 6,9 25°
Kreatinphosphat	10 700 cal ¹⁰	1 100 cal über dem Wert für ATP ¹³ p_H 7,7 20° 1 600 cal über dem Wert für ATP ¹³ p_H 9,8 20°
Argininphosphat	8 000 cal ¹⁰	11 800 cal ¹⁴ p_H 7,7 20°

Die Werte dieser Tabelle sind nicht sehr genau, Oesper selbst gibt eine Fehlergrenze bis zu 2000 $\frac{\text{cal}}{\text{Mol}}$ an (8).

Die Gründe für den Energieunterschied sind noch nicht klargestellt. Wahrscheinlich liegt die Ursache dafür in der Erscheinung der gestörten Resonanz. So wird z.B. die Carboxylresonanz, die wesentliche Ursache der Säureeigenschaft, in der Reihenfolge freie Säure, Amid, Ester, Anhydrid in zunehmendem Masse ge-

stört. Bei den Anhydriden könnten ausserdem noch die gleichnamigen Dipole der beiden Carboxylgruppen zum hohen Energiegehalt beitragen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei Pyrophosphaten, mit der Komplikation, dass Phosphor als Element der 2. Achterperiode in seinen Verbindungen mit dem Sauerstoff die unbesetzten d-Niveaus heranzuführen kann. (8) Gestörte Resonanz besteht zwischen den einzelnen Phosphatresten, ebenso elektrostatische Abstossung (9, 10).

Die Bildung energiereicher Bindungen und deren weiteres Schicksal

Betrachtet man die Bildung energiereicher Bindungen in dem System, in dem sie vonstatten geht, so zeigt sich, dass ein Ausgangsstoff, der ursprünglich ärmer an freier Energie war, durch Energieaufnahme in eine Verbindung mit höherem freien Energiegehalt übergeführt werden kann. ΔF_0 ist dabei stark positiv. Diese endergone Reaktion in dem angenommenen energetischen System ist mit einer geeigneten exergonen Reaktion verbunden. Dabei bleibt der Energiegehalt des gesamten Systems unverändert. Es verlagert sich nur die Energie innerhalb dieses Systems.

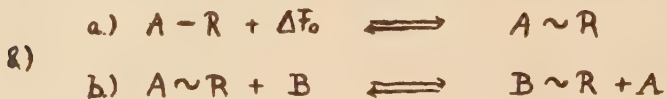
In der lebenden Zelle ist der Abbau der Kohlenhydrate, Fette und Eiweisse der entsprechende exergone, energieliefernde Prozess. Dabei entsteht in vivo die energiereiche, stabile Verbindung nie direkt, sondern immer über eine mehr oder weniger labile Zwischenverbindung. In der Bildung dieser energiereichen Zwischenverbindung liegt der eigentliche endergone Prozess. Die Übertragung der energiereichen Bindung auf einen

entsprechenden Acceptor erfolgt ohne oder mit nur geringem Verlust an freier Energie, ist also ein energetisch indifferenter, ein anergoner Prozess, der durch spezifische Fermente katalysiert wird.

Auf diese Weise ist die Energie, die dem Organismus in Gestalt von Nahrungsmitteln von aussen zugeführt wird und bei deren Verbrennung frei wird, in eine für die Zelle anderweitig frei verfügbare Form überführt und zweierlei gewonnen.

Einmal wird die chemische Energie in andere Energieformen, z.B. osmotische oder mechanische Energie, überführbar, zum anderen erfolgt auch eine räumliche Trennung der Energiebildung, die im allgemeinen in den Mitochondrien lokalisiert ist, (11) und Energieverwertung, da die neugebildeten energiereichen Verbindungen Kern- und Zellmembranen frei passieren können.

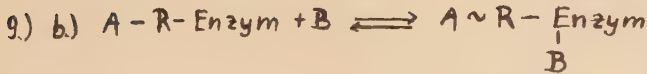
Schematisch lässt sich der Vorgang der Bildung einer energiereichen Bindung folgendermassen darstellen:



A-R energiearme Zwischenverbindung, die durch Energieaufnahme eine energiereiche Bindung erhält.

B Acceptor, auf den die energiereiche Bindung in einer Sekundärreaktion übertragen wird.

In der Form B~R ist die Energie gespeichert und für andere Zwecke verfügbar. Dabei erfolgt die Reaktion 2b wahrscheinlich enzymatisch.



Die Bildung der Adenosintriphosphorsäure

Ganz analog zu den eben angeführten Grundzügen der Entstehung energiereicher Bindungen im Organismus erfolgt die Bildung der ATP. ATP fungiert dabei in der Zelle als diejenige Verbindung, in der die Verbrennungsenergie, die beim Abbau der Nahrungsstoffe entsteht, gewissermassen stofflich eingefangen wird und bei entsprechendem Bedarf am gewünschten Ort in beliebiger Form wieder verfügbar gemacht werden kann. Die Energie der ATP liegt in den beiden endständigen Phosphatgruppen, also der Pyrophosphatkonfiguration, wobei im Muskel besonders die endständige Phosphatgruppe, im Gehirn- und Leberbrei die mittelständige Phosphatgruppe und die endständige Gruppe gleich stark reagieren. (12, 13)

Die Bildung von ATP kann ganz allgemein auf zwei Arten erfolgen, einmal durch Übertragung einer energiereichen Bindung von einer im Stoffwechselgeschehen entstehenden labilen Zwischenverbindung auf ADP, zum anderen durch Disproportionierung von 2 Molekülen ADP.



Die Reaktion 11 wird vom Ferment Myokinase katalysiert und ist nur als eine Nebenreaktion zu bewerten.

Hauptreaktion der ATP-Bildung ist der Vorgang 10. Dabei fungiert ADP als Acceptor der im Verlauf des Abbaues der Nahrungsstoffe entstehenden energiereichen Phosphatbindungen.

Die Stufen, an denen anorganisches Phosphat im Laufe des Abbaues energiereich gebunden wird, sind im Laufe der letzten Jahre näher erforscht worden. Für den Ablauf der anaeroben Glykolyse sind sie genau bekannt, während sie für den oxydativen Abbau, besonders für die Vorgänge im Warburg-Keilin-System noch weitgehend unklar sind und man auf Vermutungen angewiesen ist, die sich auf bisher gewonnene Teilergebnisse stützen

Der Begriff Substrat- bzw. Atmungskettenphosphorylierung

Die Überführung energiereicher in energiereiches Phosphat kann in zwei verschiedenen Ebenen erfolgen.

Zum ersten auf der Ebene des Substrates, d.h. der chemischen Substanz (Glukose), die dem Abbau unterworfen wird, oder den Zwischenprodukten dieses Abbaues. Man bezeichnet diesen Vorgang als Substratphosphorylierung, die bei der anaeroben Glykolyse sowie beim Abbau der Ketoglutarinsäure zu Bernsteinsäure im Verlauf des Krebszyklus (14, 15) als gesichert anzusehen ist. Von dem phosphorylierten Substrat erfolgt die Übertragung der energiereichen Bindung auf ADP.

Zum zweiten wurde der Begriff Atmungskettenphosphorylierung eingeführt, worunter sämtliche Phospho-

rylierungsvorgänge zu verstehen sind, die beim Durchlauf der Elektronen - den eigentlichen energieliefernden Agentien (Bücher) - durch das Warburg-Keilin- System stattfinden. Die Atmungskettenphosphorylierung besitzt für die Schaffung energiereicher Bindungen die weitaus grössere Bedeutung als die Substratphosphorylierung, weil in ihrem Verlauf die Hauptmenge des energiereich gebundenen Phosphates gebildet wird.

Die Substratphosphorylierung

Nur wenige Phosphorylierungsvorgänge sind bis jetzt in allen Einzelheiten geklärt. Es sind dies die im Verlaufe der anaeroben Glykolyse bzw. der alkoholischen Gärung stattfindenden Überführungen energiearmen in energiereiches Phosphat auf Substratebene, sowie dessen Übertragung auf ADP als Acceptor. Ferner eine Phosphorylierung im Krebszyklus während des oxydativen Abbaues der Brenztraubensäure.

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die im Verlaufe des Kohlenhydratstoffwechsels bis jetzt sichergestellten und angenommenen Phosphorylierungsvorgänge.

Tabelle siehe nächste Seite

Die erste energiereiche Phosphatbindung wird bei der Oxydation des im Laufe der Glykolyse entstehenden 3-Phosphoglycerinaldehyds zu 3-Phosphoglycerinsäure gebildet. Dabei kommt es zur Aufnahme eines Moleküls

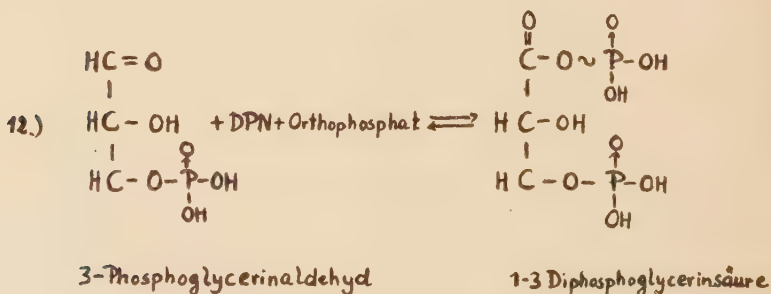
Tab 2.

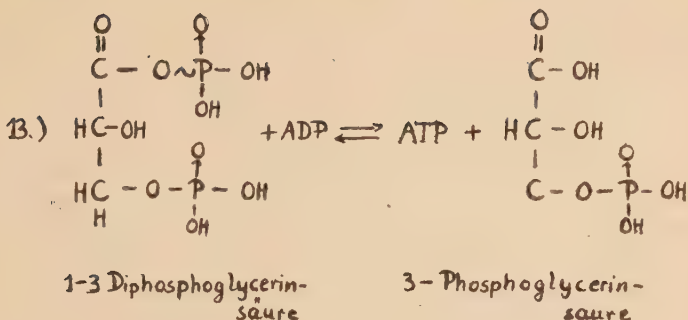
Bildung energiereicher Phosphatbindungen im Verlauf der biologischen Oxydation von Glukose über den Citronensäurecyklus. Aus Hoffmann-Ostenhoff "Enzymologie, Springer Verlag, Wien 1954

Reaktionsschritt ¹⁾	Mole ATP aus ADP (maximal)
1. 3-Phosphoglycerinaldehyd + DPN $\rightarrow$ 3-Phosphoglycerinsäure + DPN · H ₂	1
2. DPN · H ₂ + 1/2 O ₂ $\rightarrow$ DPN + H ₂ O	3
3. 2-Phosphoglycerinsäure $\rightarrow$ Brenztraubensäure (nicht-oxydativ)	1
4. Brenztraubensäure + CoA + DPN $\rightarrow$ Acetyl-CoA + DPN · H ₂ + CO ₂	0
5. DPN · H ₂ + 1/2 O ₂ $\rightarrow$ DPN + H ₂ O	3
6. Isocitronensäure + TPN $\rightarrow$ α-Ketoglutarinsäure + TPN · H ₂ + CO ₂	0
7. TPN · H ₂ + 1/2 O ₂ $\rightarrow$ TPN + H ₂ O	3
8. α-Ketoglutarinsäure + DPN $\rightarrow$ Bernsteinsäure + DPN · H ₂ + CO ₂	1
9. DPN · H ₂ + 1/2 O ₂ $\rightarrow$ DPN + H ₂ O	3
10. Bernsteinsäure + 1/2 O ₂ $\rightarrow$ Fumarsäure + H ₂ O	2
11. L-Äpfelsäure + DPN $\rightarrow$ Oxallessigsäure + DPN · H ₂	0
12. DPN · H ₂ + 1/2 O ₂ $\rightarrow$ DPN + H ₂ O	3
Summe pro Triose-einheit...	20

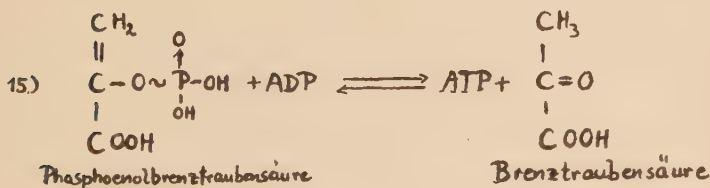
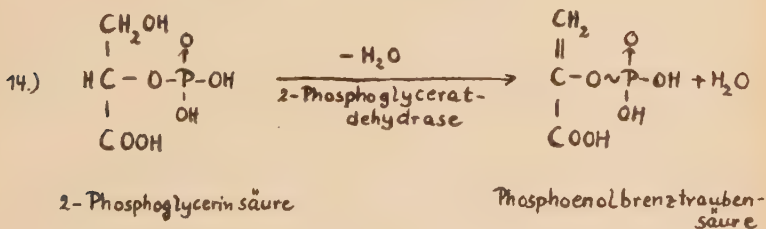
x) Die Reaktionsschritte sind nicht von einem Enzym katalysiert zu verstehen. Die meisten tabellierten Reaktionen werden durch Enzymsysteme bewirkt.

anorganischen Phosphats und Bildung einer sehr labilen Zwischenverbindung, der 1-3-Diphosphoglycerinsäure, die ihre energiereiche Bindung sofort auf ADP überträgt. (16, 17, 18)





Eine weitere energiereiche Bindung wird bei der Dehydratisierung der 2-Phosphoglycerinsäure geschaffen, und zwar ist dies die einzig bekannte Schaffung einer energiereichen Bindung, ohne dass gleichzeitig eine Oxydation stattfindet. Es entsteht Phosphoenolbrenztraubensäure, welche das energiereiche Phosphat in einer Sekundärreaktion auf ADP überträgt.



Somit entstehen pro Molekül gespaltenen Glukose 4 energiereiche Phosphatbindungen. Jedoch stehen nicht alle 4 Bindungen für den freien Energieaustausch zur

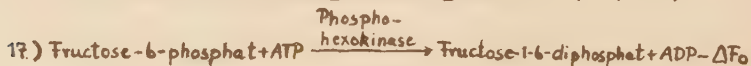
Verfügung, da die Glykolyse mit zwei Phosphatübertragungen von ATP auf Glukose, bzw. Fructose-6-phosphat eingeleitet wird.

In der Hexokinasereaktion wird die Blutglukose, die an und für sich nicht ohne weiteres abgebaut werden kann, in das glykolytische System eingeführt, sie wird phosphoryliert. Der Phosphatrest wird von ATP übertragen.

Die Reaktion wird vom Ferment Hexokinase katalysiert (19, 20, 21). Dabei wird die Energiedifferenz $-\Delta F_0 = 7000 \frac{\text{cal}}{\text{Mol}}$ frei, die zwischen ATP und Glukose-6-phosphat besteht.



Eine weitere Phosphorylierung im Verlaufe der Glykolyse, die mit Verbrauch von energiereichem Phosphat verbunden einhergeht, ist die Phospho-Hexokinase-reaktion. In ihr wird Fructose-6-phosphat mit Fructose-1-6-diphosphat ins Gleichgewicht gesetzt. (22, 23)



Die Ausbeute an energiereichem Phosphat beträgt also nach Abzug der beiden investierten Bindungen noch 2 energiereiche Bindungen pro Molekül Glukose. Sie wird etwas günstiger, wenn die Glykolyse vom Glykogen ihren Ausgangspunkt nimmt und schon eine OH-Gruppe phosphoryliert ist.

Im Schema auf Seite 17 sind die Vorgänge bei der Glykolyse zusammenfassend dargestellt.

Eine dritte in letzter Zeit bekanntgewordene Schaffung einer energiereichen Bindung auf Substrat-

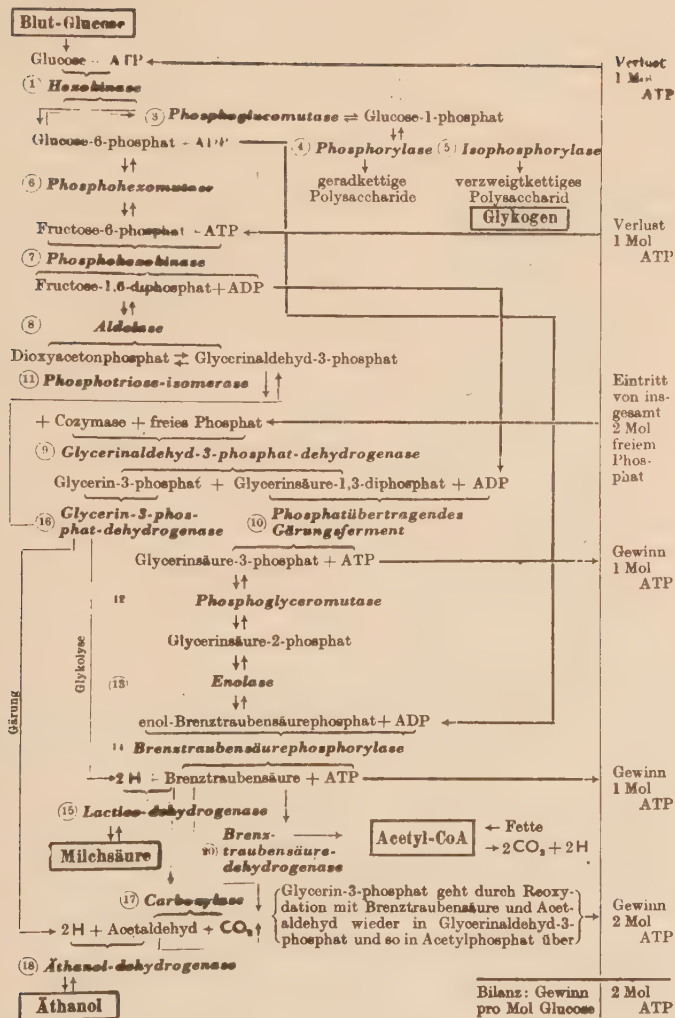
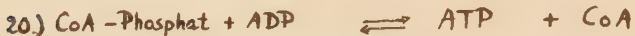
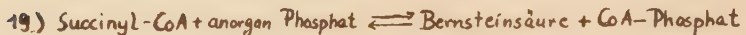


Abb. 2

Schema der Glykolyse

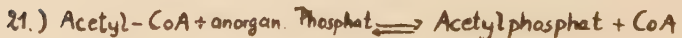
Aus Lehr- und Handbuch der Physiol.-Chemie von B. Flaschenträger, Springer-Verlag, Göttingen 1954

ebene erfolgt im Citronesäurecyklus. Die Reaktion geht unter Mitwirkung des Coenzym A, im folgenden CoA genannt, bei dem Abbau von α -Ketoglutarsäure zu Bernsteinsäure vor sich. Zunächst reagiert die Ketoglutarsäure mit DPN und CoA. Es entsteht eine Zwischenverbindung Succinyl-CoA, in der eine energiereiche Bindung, nämlich in der CoA-S R-gruppierung geschaffen wird. Succinyl-CoA reagiert mit anorganischem Phosphat zu Bernsteinsäure und CoA-phosphat. Von dem CoA-phosphat wird die Phosphatgruppe auf ADP übertragen. (14, 15)



Im allgemeinen läuft die Bildung energiereichen Phosphats durch Vermittlung des CoA nur bei bestimmten Bakterien und unter Beteiligung spezifischer Enzymsysteme ab. (24, 25)

Bei höheren Lebewesen wird die Acetylmercaptidbindung zum Aufbau von Citronensäure verwandt.



Die Atmungskettenphosphorylierung

A. Die Atmungskette

Für die mannigfachen Aufgaben der Zelle reicht bei den meisten Lebewesen die bei der anaeroben Glykolyse gewonnene Energie nicht aus. Sie beträgt nur ungefähr $-\Delta F_0 = 22000 \frac{\text{cal}}{\text{Mol}}$ pro Mol zu Milchsäure veratmeter Glukose.

Die hauptsächlichen Energiequellen^{sind} für den Organismus der oxydative Abbau der Brenztraubensäure im Krebszyklus und die mit dem Wasserstofftransport zum Sauerstoff über das Warburg-Keilin-System verbundenen Vorgänge.

Hinsichtlich der biologischen Oxydation wurden zunächst 2 sich anscheinend widersprechende Theorien entwickelt.

Wieland (26) nahm im Verlauf der biologischen Oxydation die Aktivierung des Wasserstoffs als den entscheidenden Vorgang an. Dem Sauerstoff war dabei lediglich die passive Rolle als Wasserstoffacceptor zugebracht.

Warburg dagegen hatte die Bedeutung der Schwermetallkatalyse für die biologischen Oxydationsvorgänge erkannt und stellte den Sauerstoff in den Mittelpunkt des Geschehens. (27)

Eine Koordination beider Theorien erfolgte durch die englische Schule und vornehmlich durch Keilin. Es wurde zum Ausdruck gebracht, dass die Oxydation der meisten Substrate durch einen Mechanismus erfolgt, der sowohl eine Aktivierung des Wasserstoffes durch wasserstoffübertragende Fermente als auch des Sauerstoffes

durch Schwermetallkatalyse verlangt. (28) Dabei reagiert der aktivierte Wasserstoff nie direkt mit dem aktivierten Sauerstoff, sondern über ein zwischengeschaltetes kompliziertes enzymatisches System, durch das die bei der Zusammenführung des Wasserstoff mit dem Sauerstoff, bzw. dem Elektronenübergang von H_2 zu O_2 frei werdende Energie in kleinen Portionen angeliefert wird, die von der Zelle ohne Schwierigkeit in Form von energiereichen Bindungen gespeichert werden können. Dieses Enzymsystem wird Cytochrom-cytochromoxydase-system oder Warburg-Keilin-System genannt und bildet zusammen mit den wasserstoffabspaltenden Fermenten DPN, TPN usw. die Atmungskette.

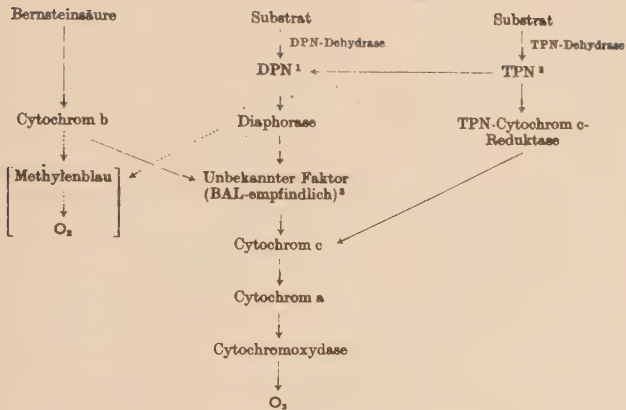
Hinsichtlich Einzelheiten wird auf die entsprechende Literatur verwiesen (Übersicht in Hoffmann-Ostenhoff "Enzymologie", Springer Verlag, Wien 1954).

Das Schema auf der folgenden Seite gibt einen Überblick über die bis heute sichergestellten Bestandteile der Atmungskette, die nach den Untersuchungen von Cleland und Slater (11) ausschliesslich in bestimmten Zellelementen, den Mitochondrien, lokalisiert sind.

B. Die Phosphorylierungsvorgänge

Analog den Vorgängen bei der anaeroben Glykolyse erfolgt im Verlauf des Wasserstoff- und Elektronentransportes über die Atmungskette eine Überführung der in den einzelnen Stufen anfallenden Energiebeträge in Bindungsenergie. Auch hier wird anorganisches Phosphat energiereich gebunden, anschliessend auf ADP übertragen und so die chemische Energie anderweitig verwendbar gemacht.

Dieser Vorgang, der als Atmungskettenphosphory-



¹ DPN = Diphosphopyridinnucleotid = Co-Zymase = Co-Dehydrogase I.

² TPN = Triphosphopyridinnucleotid = Co-Dehydrogase II.

³ BAL = Dimercaptopropanol.

Abb. 3

Atmungskettenschema nach Keilin und Slater
Aus Hoffmann-Ostenhoff "Enzymologie", Wien, Springer-
Verlag 1954

lierung bezeichnet wird, lässt sich schematisch in drei Teilschritte einteilen:

1. Schaffung einer energiereichen Phosphatbindung,
2. Übertragung derselben auf ADP,
3. Verwertung der in der zweiten Stufe gespeicherten Energie.

Während die Teilschritte 2 und 3 weitgehend erforscht sind, bestehen über den Mechanismus des Teil-

schrittes 1 - im Gegensatz zur anaeroben Glykolyse und der Substratphosphorylierung - noch keine genauen Kenntnisse.

Es wird die Bildung einer sehr labilen Zwischenverbindung, des sogenannten Gelposphats angenommen, in dem anorganisches Phosphat energiereich gebunden wird. Diese primär entstehende Verbindung Gelposphat steht in einem sehr schnell sich einstellenden Gleichgewicht mit anorganischem Phosphat des Mediums. (29)



Es sind verschiedene Substanzen beschrieben worden, die auf das Gleichgewicht dieser Reaktion einen Einfluss haben. Dabei kommt es einerseits zu einer Entkoppelung zwischen Oxydation und Gelposphatbildung, d.h. die Oxydationsvorgänge laufen weiter, während die Gelposphatbildung unterbleibt (30, 31, 32, 33), andererseits wird nur eine Wirkung auf das Gleichgewicht der Reaktion im Sinne einer Gleichgewichtsverschiebung angenommen. (34)

In der Teilreaktion 2 wird die im Gelposphat intermediär gebildete energiereiche Bindung auf ADP übertragen.

Bis jetzt ist es noch nicht gelungen, das Gesamtsystem in Lösung zu bringen. Es ist so streng an die strukturellen Zellanteile, die Mitochondrien, geknüpft, dass der Versuch einer Abtrennung die Zerstörung des Systems mit sich führt. Die Bildung des Gelposphats ist an den Elektronen- und Wasserstofftransport geknüpft. Hierbei ist die Mitwirkung spezifischer Fermente erforderlich.

Der Wasserstoff wird von den reduzierten Pyridin-

nucleotiden abgegeben, diese dadurch oxydiert und für weiteren Wasserstofftransport freigemacht. Es erfolgt dann ein Weitertransport der Elektronen über die Cytochrome und eine Übertragung derselben auf den Sauerstoff mit Hilfe der Cytochromoxydase. Ein Schema von Bücher möge einen Überblick über die Vorgänge geben.

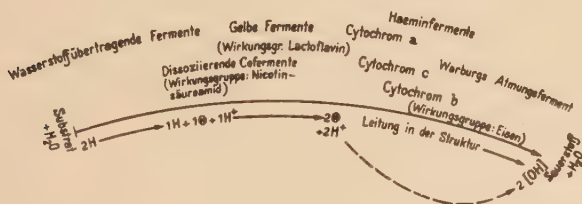


Abb. 4

Aus Lang, Der intermediäre Stoffwechsel,
Springer Verlag, Göttingen 1952

Bücher unterscheidet zweierlei Energietransportarten, die Energieüberführung, bei der Energie an materielle Träger geknüpft ist, z.B. ATP, und überallhin in der Zelle transportiert werden kann, und den Energietransport durch Leitung im Warburg-Keilin-System, wobei die Materie ruht und sich nur Teile der Moleküle als Energieträger bewegen (35). Die elektronenübertragenden Enzyme sind dabei fest an die Struktur gebunden, d.h. im Organismus der Zelle an die Mitochondrien (36). Dabei kommt es nach den Berechnungen von Lehninger (37) pro übertragenem Wasserstoff- bzw. Elektronenpaar zur Bildung von 3 energiereichen Phosphatbindungen, d.h. pro Mol oxydierten enzymatischen Komplements, z.B. $DPNH_2$ werden 3 Mol Orthophosphat energiereich gebunden. Die Neubildung der energiereichen Phosphatbindung findet also auf dem Niveau der elektronenübertragenden

Substanz statt.

Aus bisher bekannten Tatsachen lässt sich berechnen, dass pro Mol über den Citronensäurezyklus vollständig zu H_2O und CO_2 veratmeter Glukose 36 energiereiche Phosphatbindungen entstehen, wobei die Bindungen schon abgerechnet sind, die zur Einleitung des Prozesses zunächst investiert werden müssen. Da bei der vollständigen Verbrennung der Glukose in der kalorimetrischen Bombe ein Energiebetrag von $-\Delta F_0 = 674000$ cal frei wird, errechnet sich, wenn man pro energiereiche Phosphatbindung einen Wert von $-\Delta F_0 = 10000$ cal ansetzt, eine Energieausnutzung von rund 60%.

	a) 2 νP aus Glykolyse	= -22 000 cal
24)	b) 34 νP aus oxydierter BTS	= -374 000 cal
	$\Delta F_0 a + b$	= -396 000 cal
	c) $-\Delta F_0$ aus Gesamtoxydation Glukose	= -674 000 cal

Die experimentelle Bestimmung der maximal möglichen Ausbeute an ATP gestaltet sich sehr schwierig, da die Zelle viele Möglichkeiten zum Abbau der ATP besitzt. Dagegen ist es möglich, den Spannungsabfall beim Übergang von Elektronen vom Wasserstoff zum Sauerstoff zu bestimmen, und zwar beträgt dieser 1,23 Volt, gemessen am Redoxpotential des Sauerstoffes, bezogen auf die Wasserstoffelektrode bei $Ph = 0$. 1 Faraday-Volt entspricht $2,3061 \cdot 10^1$ kcal.

Legt man für eine energiereiche Phosphatbindung eine Energie von ungefähr 10 - 12 kcal zugrunde, so bekommt man beim Durchlauf von 2 Elektronen durch das

Warburg-Keilin-System, also bei der Verbrennung von $2H$ zu H_2O eine Energie von annähernd 56 kcal, die ungefähr 4,5 energiereichen Phosphatbindungen entspricht.

Lipmann hat die Vorgänge vorläufig folgendermassen in einem Schema formuliert:

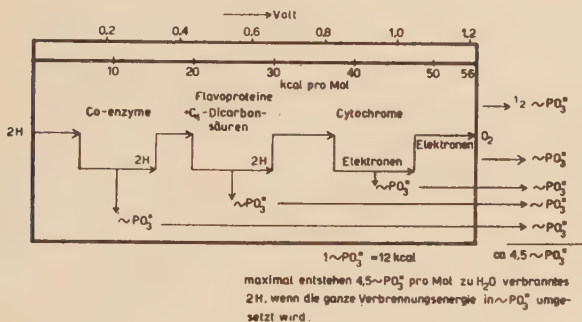


Abb. 5

Mögliche Ausbeute an PO_3 bei der Verbrennung von $2H$ zu H_2O im Warburg-Keilin-System. Aus Lehr- und Handbuch der Physiol.-Chemie von B. Flaschenträger, Springer-Verlag, Göttingen 1954

Nach den Berechnungen von Lehninger (37) und Lipmann (38) werden beim Durchlaufen von $2H$ durch das Warburg-Keilin-System 3 energiereiche Phosphatbindungen gebildet; das entspricht bei einer maximal möglichen Energieausbeute von 4,5 energiereichen Phosphatbindungen einem Wert von 75%.

Die Rolle der ATP im Stoffwechselgeschehen

Die im Laufe des Abbaues der Nahrungsstoffe freiwerdende und in Form von energiereichen Bindungen an ATP gebundene Energie ist für alle endergonen Pro-

zesse des Organismus frei verfügbar. Ausserdem ist die Energie, wie schon anfangs erwähnt, in der Form von ATP nicht mehr an den Ort ihrer ursprünglichen Entstehung, die Mitochondrien, gebunden, sie kann im Organismus und in der Zelle ungehindert an den Ort ihres Verbrauchs gebracht werden.

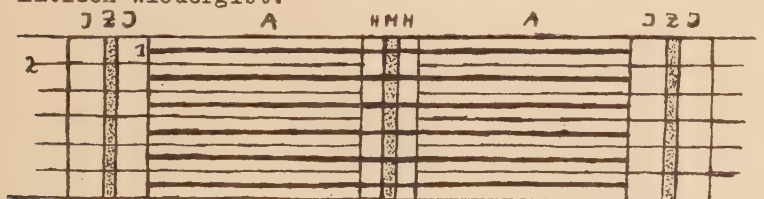
Einige Beispiele mögen die dominierende Stellung der ATP im Stoffwechselgeschehen erhärten. Sämtliche Synthesen, die der Organismus zur Erhaltung seiner Struktur und seiner Ordnung durchführen muss, Glykogensynthese, Eiweissynthese aus den mit den Nahrungsstoffen aufgenommenen Aminosäuren, biologische Harnstoffsynthese, Cholesterin- und Acetylcholinsynthese usw. sind mit Energieaufnahme verbunden und bedürfen zu ihrer Einleitung der Hydrolyseenergie der ATP. Die Aufrechterhaltung der osmotischen Druckverhältnisse, von Ionengleichgewichten, die für das Funktionieren des Zellorganismus von Bedeutung sind, die Bioluminescens erweisen sich als energieverzehrende Prozesse und sind so von ausreichendem ATP-Angebot abhängig. Wegen der besonderen Bedeutung der ATP für die Muskeltätigkeit sei hier kurz auf ihre Rolle beim aktiven Kontraktionsvorgang eingegangen; vor allem auch deswegen, weil die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche mit einem Muskelpräparat, dem Herzmuskel des Frosches durchgeführt wurden.

Die ATP als Energieträger bei der Muskelkontraktion

Die Fähigkeit des Myosins, des kontraktilen Elementes der quergestreiften Muskulatur, anorganisches Phosphat aus ATP abzuspalten, ist seit 1939 bekannt(39). Es sind im Laufe der Jahre eine Menge Versuche veröf-

fentlicht worden, die hinsichtlich der Lokalisation der ATP im Muskel angestellt wurden. So stellten Caspersson und Theorell (40) fest, dass im ruhenden Muskel sich die ATP vornehmlich in den I-Scheiben befindet. Baily (41) untersuchte ermüdete Muskeln und fand, dass bei Ermüdung die grösste Menge der ATP in die A-Scheibe hinübergewechselt war.

An dieser Stelle sei eine Zeichnung eingefügt, die die derzeitig bekannte Struktur der Myofibrillen schematisch wiedergibt.



- 1 = dicke Myofibrille = Myosin
- 2 = dünne Myofibrille = Actin

Abb. 6

Schematische Darstellung einer Myofibrille nach Huxley (1953) aus "Bargmann, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen" (Thieme-Verlag, Stuttgart 1956)

Die unmittelbare Wirkung der ATP auf den Kontraktionsvorgang bewiesen Versuche von Weber (42) und Kalckar (43) sowie anderen Untersuchern (44). Setzt man nämlich in vitro Aktomyosinfäden ATP zu, so erfolgt deren Kontraktion unmittelbar nach ATP-Zugabe. Dagegen enthält der ruhende Muskel ATP und Aktomyosin nebeneinander, ohne dass eine Kontraktion eintritt. Nur bei ATP-Zugabe setzt dieser ein. Man nimmt deshalb eine inaktive Form der ATP im Muskel an (45).

Wenn auch durch alle diese Versuche nachgewiesen ist, dass bei der Muskelkontraktion Phosphatbindungsenergie verbraucht wird und die chemische Energie durch einen sinnreichen Vorgang in mechanische Energie umgewandelt wird, so ist doch bis heute eine Aufklärung dieser Vorgänge noch nicht eindeutig gelungen. Es sind eine Menge Theorien entwickelt worden, hinsichtlich derer auf die entsprechende Originalliteratur verwiesen wird (46, 47, 48, 49).

Der Phosphat-turn-over der ATP

Bei der überragenden Bedeutung der ATP als Energieträger für den Organismus nimmt es nicht wunder, dass die Phosphatgruppen der ATP sich in ständigem Austausch mit anorganischem Phosphat des umgebenden Mediums befinden. So wird, wie Versuche von Kalckar und Mitarbeitern sowie Sacks ergaben (50, 51), im Säugetiermuskel das in Form von energiereichen Bindungen vorhandene Phosphat innerhalb von 20 min vollständig durch anorganisches Phosphat ausgetauscht. Ähnlich liegen die Verhältnisse beim im Kreatinphosphat energiereich gebundenen Phosphat.

Der Abbau der ATP

Zum Abschluss sei noch auf den Abbau der ATP eingegangen. In Anbetracht der vielen Verwendungsmöglichkeiten der ATP besitzt die Zelle eine Vielzahl von Enzymsystemen, mit Hilfe derer die verschiedenen Phosphatbindungen der ATP gelöst werden können.

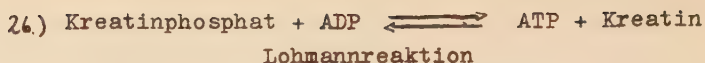
Die wichtigsten Reaktionen sind ohne Zweifel der Abbau der ATP zu ADP und AMP. Während im Muskel vornehmlich die endständige Phosphatgruppe reaktionsfähig ist (12, 13), unterliegt die mittlere Gruppe viel weniger einer Spaltung. Umgekehrt liegen die Verhältnisse in Gehirn und Leber.



Die dritte Phosphatgruppe an der Ribose, also eine Esterphosphatbindung, wird sowohl im Muskel wie in Leber und Gehirn wesentlich langsamer umgesetzt (52) als die beiden endständigen Gruppen. Im Herzmuskel werden die oben angeführten Reaktionen durch Glukoside wie Strophosid und Digilanid gefördert (53).

Von grosser Bedeutung ist ferner der von Lohmann, Lehmann und Banga erforschte Zusammenhang zwischen ATP und Kreatin, d.h. die wechselseitige Phosphatübertragung von ATP auf Kreatin und umgekehrt.

Kreatinphosphat wurde im Jahre 1926 von Eggleton entdeckt (54). Bald darauf wurde in weiteren Arbeiten die Bedeutung dieser Verbindung für die Muskelkontraktion erforscht (55). Lohmann fand jedoch, dass Kreatinphosphat nicht unmittelbar mit der Muskelkontraktion zusammenhängt, sondern in einer nach Lohmann benannten Reaktion zunächst seine Phosphatgruppe auf ADP übertragen muss (56).



In Umkehr der Lohmannreaktion kann von ATP die energiereiche Phosphatbindung auf Kreatin ohne Energieverlust - auch im Kreatinphosphat liegt eine energiereiche Bindung vor - übertragen und dort gespeichert werden, falls für die im Laufe des Glukoseabbaues anfallende ATP keine unmittelbare Verwendungsmöglichkeit besteht (57, 58). Im Bedarfsfalle erfolgt dann mittels der Lohmannreaktion eine Rückschleusung der im Kreatinphosphat gespeicherten Energie in den Energieprozess.

An dieser Stelle seien noch einige Nebenwege des ATP-Abbaus eingefügt, welche vornehmlich bei Acceptor-mangel (ADP-Mangel) auftreten, zur Anhäufung von anorganischem Pyrophosphat führen und bei der Erklärung der Versuchsergebnisse gewisse Hinweise geben können.

Kornberg und Price (59) entdeckten 1950 ein Enzym, welches die Pyrophosphatbindung in DPN, TPN sprengt und ebenso in den Flavinadeninnucleotiden wirksam ist. Sie nannten es Nucleotid-Pyrophosphatase. Wie an der Spaltung, ist das neugefundene Ferment auch an der Synthese der entsprechenden Verbindungen beteiligt. Es katalysiert folgende Reaktionen (60):



In dieser Reaktion können durch Mitwirkung der ATP wichtige Cofermente gebildet werden.

P. Osten und Mitarbeiter berichten von Versuchen

mit Hefeextrakten, bei denen Adenosin zu Muskeladenylsäure und ATP phosphoryliert werden konnte, wenn gleichzeitig Hexosediphosphat und Phosphoglycerinsäure vergoren werden (23, 61).



Auch hier ist das zugehörige Fermentsystem kürzlich gefunden worden (62, 63). Durch beide Reaktionen kann der Organismus eventuell auftretenden Acceptormangel überwinden.

Zusammenfassung

Die Adenosintriphosphorsäure ist der wichtigste Energieträger der Zelle. Sie stellt transportable chemische Energie dar, die der Organismus für alle endergonen Vorgänge an jedem gewünschten Ort verwenden kann. Die Energie ist in bestimmten Bindungen gespeichert, bei deren Auflösung sie freigesetzt wird. Die Schaffung dieser energiereichen Bindungen erfolgt im Laufe des Abbaues der Nahrungsstoffe, in besonderem Masse beim Transport der Elektronen durch das Warburg-Keilin-System. Es entstehen zunächst labile Zwischenverbindungen unter Aufnahme anorganischen Phosphats bzw. unter Überführung einer bereits vorhandenen energiereichen Esterphosphatbindung in eine energiereiche Bindung. Diese energiereichen Bindungen werden mittels bestimmter Fermentsysteme auf einen geeigneten Acceptor, ADP, übertragen. Damit ist die Energie in Form von ATP bereitgestellt und jederzeit verwendbar.

Hauptteil B x)

Einleitung

Im folgenden sei über Versuche berichtet, in denen stoffwechselwirksame Eigenschaften verschiedener chemischer Substanzen untersucht wurden, und zwar deren spezielle Wirkung auf das ermüdete Froschherz.

Bei der dominierenden Stellung der ATP im Stoffwechselgeschehen als Energiepotential der Zelle ist deren ausreichende Synthese unbedingt erforderlich. Auf dem komplizierten Bildungsweg, den wir im vorigen Teil kennengelernt haben, sind mannigfache Störungen im Synthesegang denkbar. So müssen Brennstoffe und Fermente in genügender Menge vorhanden sein, bestimmte Ionenkonzentrationen müssen gewahrt bleiben, um die Überführung der Verbrennungsenergie in Bindungsenergie zu gewährleisten.

Ist in irgendeinem Teilgebiet der Phosphorylierungsvorgänge eine Störung aufgetreten, so wird sich das im Endeffekt in einem ATP-Mangelzustand und somit in einem Absinken der Zell- und Organleistung kundtun.

Also darf man schliessen, dass es bei äusserlich sichtbar abnehmender Organleistung, z.B. der eines Muskels, zu bestimmten Stoffwechselmangelzuständen gekommen ist, die letztlich auf einer Störung der ATP-Synthese beruhen.

Einen Beitrag zur Behebung solcher Stoffwechselmangelzustände soll die vorliegende Arbeit bilden.

x) Die Versuchsergebnisse wurden in der Klinischen Wochenschrift 43/44, 1192 (1956) veröffentlicht.

Methodik

Als Versuchsobjekt wurde das überlebende Froschherz verwendet. Die Präparation erfolgte nach den Angaben von Ther (64) in Anlehnung an Fühner.

Nach Dekapitation des Frosches und Zerstörung des Rückenmarkes wurde die Haut von kranial nach kaudal abpräpariert, das Brustbein von oben nach unten durchtrennt, der Schnitt bis zur Symphyse verlängert, der Brust- und Bauchraum eröffnet. Nach Durchtrennung der beiden Oberarmknochen wurden die beiden Sternalanteile nach lateral geschlagen.

Die Abpräparation des Herzbeutels erfolgte von kaudal nach kranial bis weit auf die beiden Aortenäste. Dann wurde die Kanüle in die linke Aorta eingeschoben und im Ventrikel eingebunden. Das Herz wurde von seinen dorsalen Verbindungen gelöst und die Vorhöfe gegen den Venensinus abgebunden. Diese Abbindung erwies sich als erforderlich, um ein Undichtwerden des Präparates bei der langen Versuchsdauer zu vermeiden. An Stelle der normalen Straub'schen Kanüle wurde eine solche nach Scheibe und Niemer modifizierte ver-



Abb. 7
Modifizierte Straubkanüle

wendet. (Siehe Abbildung)
Unmittelbar über dem ins Herz führenden Zulaufstutzen wurde ein Überlaufröhrchen angebracht. Aus einem Vorratsgefäß wurde im ersten Teil des Versuches, der Ermüdungszeit, ständig frische, brennstofffreie Ringerlösung zugeführt. Der Überlauf hielt den Ka-

nüleninhalt konstant und leitete die zuströmende Ringerlösung wieder ab, nachdem diese sich mit den aus dem Froschherzen ausgeschwemmten Stoffen beladen hatte. Durch die Anbringung des Überlaufrohres direkt über dem ins Herz führenden Stutzen wurde es möglich, in besonderem Masse die bei jeder Systole aus dem Herzen ausgepresste Flüssigkeit abzuführen.

Ferner wurde durch die Konstanterhaltung des Kanüleninhaltes jede mechanische Beeinflussung der Amplitude des Herzens durch wechselnde Kanülenfüllung vermieden.

Das auf der Kanüle fixierte Herz wurde in eine feuchte Kammer gebracht und über eine an seiner Spitze angebrachte Klemme die Herzrevolutionen auf einen isotonischen Schreibhebel übertragen und an einem Kymographion registriert.

Unmittelbar nach der Präparation arbeitete das Herz mit voller Wirkungsstärke. Diese wurde registriert und dann das Herz im ersten Teil des Versuches 15 Stunden lang mit brennstofffreier Ringerlösung durchströmt. Die Menge der Spülflüssigkeit betrug im Mittel 600 ccm. Im Laufe der Durchströmungszeit verarmte das Herz an Brennstoffen wie an Stoffwechselkatalysatoren, was sich in einer Verkleinerung der Amplitude am Ende der Durchströmungszeit ausdrückte. Diese Amplitudenverringering wurde als Ermüdungshöhe bezeichnet und betrug im Mittel 30%, bezogen auf die Ausgangsamplitude unmittelbar nach der Präparation. Im zweiten Teil des Versuches wurde die auf ihre Stoffwechselwirkung zu untersuchende Substanz in die Kanüle eingegeben und 2 Stunden in dieser belassen. Während dieser Zeit erfolgte ständige Registrierung. Die Ergebnisse wurden anschliessend statistisch ausgewertet.

Vergleich des Froschherzpräparates mit dem Cyclophorase-System

Zwischen dem ermüdeten Froschherzen und dem bisher für Stoffwechselversuche - besonders Versuche, die sich mit energiereichen Bindungen befassen - verwendeten Enzymsystem, dem Cyclophorase-System, bestehen viele Beziehungen. Man kann das ermüdete Froschherz in der oben beschriebenen Versuchsanordnung im weiteren Sinne als ein verbrauchtes Cyclophorase-System bezeichnen, mit dem einen Unterschied, dass man beim ermüdeten Herzen ein physiologisch voll intaktes Organ in den Händen hat, dessen Ausgangslage sich unschwer reproduzieren lässt, während das Cyclophorase-System ein reines Mitochondrienpräparat darstellt. Es ist ein Gel und enthält alle in den Mitochondrien vorkommenden Enzyme, wurde von Green 1948 erstmals beschrieben (65) und ist seitdem für viele Untersuchungen verwendet worden. Das System ist gegen äussere Schädigungen sehr empfindlich. Mit seinem Altern nimmt sein Gehalt an Co-enzymen, die in frischem Zustand in ausreichendem Masse vorhanden sind, ebenso wie sein Gehalt an ATP und ADP ab, welche nach aussen abgegeben werden. Durch Zusatz von frischen Co-Enzymen ist der Umsatz im Cyclophorase-System wieder zu steigern (66, 67).

Auch am Froschherzen kommt es in der oben beschriebenen Versuchsanordnung zu Ermüdungserscheinungen, die ihren Ausdruck in der verringerten Amplitude finden.

Die Leistung des Herzens nimmt durch den Verbrauch der Energiereserven und der wohl damit verbundenen Beeinflussung der Fermentsysteme in negativem Sinne während der 15-stündigen Ermüdungszeit in zunehmendem Masse ab.

Man ist also zu dem Vergleich mit dem Cyclophorase-System berechtigt.

Die eigentliche Fragestellung der Arbeit ist nun die, ob mit einem Zusatz von verschiedenen Substanzen die Leistung des ermüdeten Herzens eventuell in positivem Sinne zu beeinflussen ist.

Beim ermüdeten Froschherzen lassen sich die gesteigerten Stoffwechselvorgänge und die Leistungssteigerung, die auf ein vermehrtes Auftreten von energiereichen Bindungen schliessen lassen, durch Registrierung am Kymographion sichtbar machen.

Verbindungen und Lösungen

Folgende Verbindungen wurden auf ihre stoffwechselwirksamen Eigenschaften untersucht, zu Vergleichszwecken, oder als Antagonisten herangezogen:

- | | |
|---|-------------------------|
| 1. Fructose (pyrogenfrei) | Farbwerke Hoechst |
| 2. Adenosin | Farbwerke Hoechst |
| 3. Fosfaton, das Mononatriumsalz der Cyclohexenyl-oxymethyl-
terphosphorigen Säure | Farbwerke Hoechst |
| 4. Adenosintriphosphat | Th. Schuchhardt München |
| 5. Atropinsulfat | E. Merck, Darmstadt |
| 6. Cholinchlorid | E. Merck, Darmstadt |

Die für die Versuche verwendete, ständig mit O_2 durchperlte Kaltblüterringerlösung setzte sich zusammen aus:

NaCl	=	0,65 %	
KCl	=	0,02 %	
MgMl ₂	=	0,01 %	alle Substanzen
CaCl ₂	=	0,02 %	"pro analysi"
NaHCO ₃	=	0,07 %	
NaH ₂ PO ₄	=	0,005%	

Die Angaben beziehen sich auf kristallwasserfreie Trockensubstanz.

Die Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösung betrug $\text{Ph} = 7,2-7,4$. Für die Gefrierpunktserniedrigung wurde ein Wert $\Delta T = 0,46-0,47$ gefunden. Die Registrierung erfolgte mit einem Russchleifenkymographion, die Zeitmessung mit einer Wechselstromkontaktuhr (beide Fa. Braun, Melsungen).

Zur Testung gelangten männliche Temporarien und Eskulenten.

Ergebnisse

Es wurden insgesamt 4 Versuchsreihen durchgeführt mit jeweils 18 bis 31 Einzelversuchen. Die errechneten und an Kurven dargestellten Werte resultieren aus Mittelwerten, die sich aus den jeweiligen Einzelversuchen der entsprechenden Reihen ergeben.

Versuch 1

Für die Gewinnung einer Bezugskurve für die weiteren Untersuchungen mit katalytisch wirksamen Substanzen wurde dem ermüdeten Froschherzen zunächst nur eine mit Brennstoffen versehene Ringerlösung angeboten. Im Gegensatz zu anderen Untersuchern (68) verwendete ich

Fructose in einer Konzentration von 0,2%.

Aus den Arbeiten von Meyerhof geht hervor, dass bei ausreichendem Angebot von Fructose diese ebenso schnell wie Glukose umgesetzt wird (69, 70). Allerdings wird die Fructose nicht, wie ursprünglich angenommen wurde, durch Mitwirkung der Hexokinase phosphoryliert, sondern durch ein eigenes Ferment, die Fructokinase, wie Cori und Mitarbeiter festgestellt haben (71, 72). Somit war aus der Verwendung von Fructose keine besondere Wirkung zu erwarten.

Als Ermüdungshubhöhe in dieser Versuchsreihe wurde ein Wert von 29,7% ermittelt. 10 min. nach Zugabe der Testlösung stieg die Hubhöhe auf 38,2%, fiel nach 60 min auf 35,6% und erreichte nach 120 min den Wert von 36,4% (jeweils Mittelwerte aus 27 Versuchen). Es zeigte sich also, dass ein Brennstoffangebot allein die Herzleistung nicht wesentlich zu steigern vermochte.

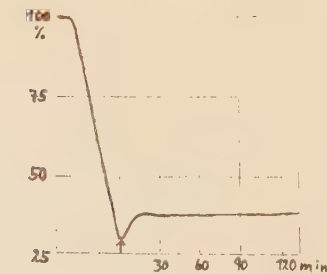


Abb. 8

Ringer + Fructose 0,2%.

Im Laufe der Ermüdungszeit von 15 Stunden mussten also nicht nur die Brennstoffvorräte, sondern in besonderem Masse auch Stoffwechselkatalysatoren ausgeschwemmt sein, die für eine funktionelle Regeneration und somit für eine Ankurbelung der Stoffwechselvorgänge in dem ermüdeten Organ von Wichtigkeit sind. Eine Originalkurve ist auf Seite 59 gezeigt.

sind. Eine Originalkurve ist auf Seite 59 gezeigt.

Versuch 2

In einer zweiten Versuchsreihe von 18 Einzelversuchen wurde der 0,2% Fructose enthaltenden Ringerlösung Adenosin in einer Konzentration von $10^{-8} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ zugegeben. Es wurde deswegen die geringe Adenosinkonzentration gewählt, weil Adenosin am Froschherzen schon bei einer Konzentration von $10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ eine deutlich pharmakologische Wirkung zeigt, nämlich im Sinne einer Vaguswirkung. Siehe Abb. auf Seite 46.

Als Ermüdungshubhöhe wurde ein Wert von 29%, bezogen auf die Ausgangsamplitude, errechnet. Nach Zugabe der Testsubstanz stieg die Hubhöhe innerhalb von 10 min auf 35,8%, nach 60 min auf 36,5% und 120 min auf 39,0%. Der maximale Leistungszuwachs betrug hierbei also 10%. Siehe auch Abb. und Originalkurve auf

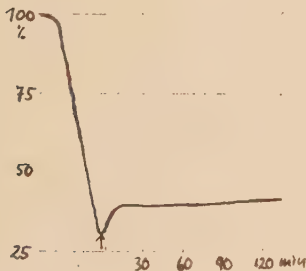


Abb. 9

Ringer + Fructose 0,2% + Adenosin 10^{-8}

Seite 59. Die statistische Auswertung ergab jedoch keine signifikante Abweichung von dem in Versuch 1 gewonnenen Werte. Damit vermochte auch Adenosin allein nicht die Leistung des ermüdeten Organs in auffälliger Weise zu steigern.

Versuch 3

In 19 Einzelversuchen wurde der 0,2% Fructose enthaltenden Ringerlösung, wie sie schon in Versuch 1 und 2 verwandt worden war, in Abweichung von Versuch 2 Fosfaton in einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-5} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ zuge-

setzt. Die Ermüdungshubhöhe in diesen Versuchen betrug

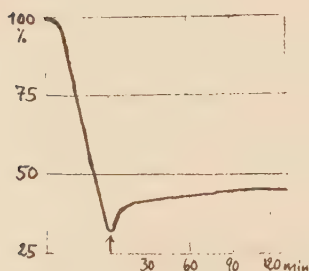


Abb. 10

Ringer + Fructose 0,2% + Fosfaton 5×10^{-5}

28,3%. Nach 10 min vergrößerte sich die Amplitude auf 37,8%, nach 60 min auf 42,0% und fiel nach 120 min auf 41,9%. Der Leistungszuwachs betrug zwar insgesamt 13,6%, bezogen auf den Ausgangswert. Die statistische Auswertung ergab jedoch für K einen Wert von nur 1,38. Somit konnte auch hier keine signifikante

Abweichung gegenüber Versuch 1 konstatiert werden.

Versuch 4

In einer letzten Versuchsreihe von 31 Einzelversuchen wurden dem ermüdeten Froschherzen Fructose, Adenosin und Fosfaton zusammen in den in Versuch 1, 2

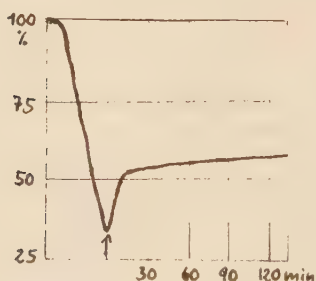


Abb. 11.

Ringer + Fructose 0,2% + Adenosin 10^{-8} + Fosfaton 5×10^{-5}

und 3 angegebenen Konzentrationen angeboten. Die Ermüdungshubhöhe in dieser Reihe betrug 33,7%, bezogen auf die Ausgangsamplitude. Sehr bald nach Zugabe der Testlösung in die Kanüle stieg die Hubhöhe in den meisten Fällen stark an. Nur bei wenigen Herzen setzte der Leistungszuwachs langsam

ein (5 Herzen). Nach 10 min wurde ein Wert von 50,3% registriert, nach 60 min von 54,1% und nach 120 min von 56,17%. Gegenüber den vorigen Versuchen fiel die starke Steigerung der Herzleistung auf, die sich in einem beträchtlichen Anwachsen der Amplitude nach Zugabe der Testlösung ausdrückte. Die statistische Auswertung ergab gegenüber Versuch 1, 2 und 3 deutlich signifikante Unterschiede.

Statistische Auswertung

Es wurden bei der statistischen Auswertung jeweils die nach 120 min gefundenen Mittelwerte der Versuche 1, 2, 3 und 4 miteinander verglichen und die entsprechenden Werte für die Signifikante K errechnet. Die Berechnung von K erfolgte nach folgender Formel (64):

$$30.) \quad K = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}}$$

Hierfür bedurfte es noch der Bestimmung der Werte σ und ε . Mit dem Symbol σ wird die mittlere Abweichung oder Streuung der Werte einer Versuchsserie angegeben, während ε den mittleren Fehler oder die mittlere Abweichung der einzelnen Mittelwerte bezeichnet.

$$31.) \quad \sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}} \quad \begin{array}{l} d = \text{Abweichung vom Mittelwert} \\ n = \text{Anzahl der beobachteten Fälle} \end{array}$$

$$32.) \quad \varepsilon = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Werte für σ und ε

Versuch 1: Mittelwert aus 27 Versuchen nach 120 min
= 36,4%; σ = 12,6; ε = 2,62

Versuch 2: Mittelwert aus 18 Versuchen nach 120 min
= 39,0%; σ = 17,6; ε = 4,77

Versuch 3: Mittelwert aus 19 Versuchen nach 120 min
= 41,9%; σ = 13,2; ε = 3,11

Versuch 4: Mittelwert aus 31 Versuchen nach 120 min
= 56,2%; σ = 12,9; ε = 2,38

Tabelle 3: Werte für die Signifikante K

Versuch	1	2	3	4
1		0.61	1.38	5.6
2	0.61		0.42	3.54
3	1.38	0.42		3.80
4	5.6	3.54	3.80	

Diskussion der Versuchsergebnisse

Es zeigte sich bei den Versuchen am ermüdeten Froschherzen eine deutliche Leistungssteigerung von 22,4%, die auch statistisch einwandfrei belegt werden konnte, bei Zugabe von Adenosin und Fosfaton zusammen mit 0,2% Fuctose. Allein riefen alle Stoffe keine deut-

liche Leistungssteigerung hervor.

Bei Untersuchungen, die Scheibe und Niemer (68) mit der gleichen Versuchsanordnung durchgeführt hatten, wurde bei Zusatz von ATP zum ermüdeten Herzen ein ähnlicher Leistungszuwachs gefunden wie in Versuch 4.

Daraus ergaben sich zweierlei Folgerungen. Einmal deutete das Ansteigen der Herzleistung bei ATP-Zugabe auf einen ATP-Mangelzustand hin, der, wenn auch nicht völlig, so doch zu einem Teil, nämlich rund 25%, wieder rückgängig gemacht werden konnte. Dieser Mangelzustand war im Laufe der langen Ermüdungszeit aufgetreten und ist wohl darauf zurückzuführen, dass die ATP zusammen mit anderen stoffwechselwirksamen Substanzen ausgeschwemmt wurde. Da während der Ermüdungszeit weiterhin kein Brennstoff angeboten wurde, kam es auch zu einem Abbau der Glykogenreserven des Herzmuskels, welcher seinerseits zu einer Drosselung der Stoffwechselvorgänge und damit zu geringerer Bereitstellung von Energieträgern, der ATP, führte.

Dass daneben auch noch andere katalytisch wirksame Substanzen ausgeschwemmt sein mussten, ergab sich ebenfalls aus den Versuchen von Scheibe und Niemer, bei denen sie zu ATP noch Phoselit zugaben und eine weitere Leistungssteigerung registrieren konnten.

Zum anderen zeigte die funktionelle Regeneration des ermüdeten Herzmuskels bei ATP-Zugabe, dass ein Ansteigen der Herzleistung vornehmlich auf die Stoffwechselwirkung der ATP zurückzuführen war, was auch aus den theoretischen Betrachtungen des 1. Teiles dieser Arbeit sich unschwer folgern lässt.

Die Wirkung des Fosfaton schien bei den oben beschriebenen Versuchen eine katalytische zu sein, und zwar schien sich die Katalyse vornehmlich auf die

Phosphorylierungsvorgänge zu erstrecken.

Die katalytische Wirkung anderer chemischer Substanzen auf die Bildung energiereichen Phosphats wurde bereits von anderen Autoren beschrieben. So berichtet Martius in mehreren Arbeiten (73, 74, 75, 76) über die Wirkung der Vitamine E und K auf die Atmungskettenphosphorylierung. Andere Untersucher (77) stellten ebenfalls am ermüdeten Froschherzen in der oben beschriebenen Versuchsanordnung bei Versuchen mit Wadi Ginseng einen Leistungszuwachs fest, der wohl auf den Gehalt des Wadi Ginseng an Vitamin E zurückzuführen war.

In welche Phasen des Stoffwechselgeschehens das Fosfaton eingreifen könnte, ging aus den oben beschriebenen Versuchen nicht deutlich hervor. In allen Stufen, in denen es zu Phosphorylierungen kommt oder auch bei der Aufnahme anorganischen Phosphats, z.B. bei der Bildung des Gel-Phosphats, ferner bei der Hexokinase-reaktion und der Phospho-Hexokinase-reaktion sowie bei allen Phosphatübertragungen ist eine katalytische Wirkung des Fosfaton denkbar.

Bemerkenswert war weiter die Tatsache, dass es nur bei der gleichzeitigen Anwesenheit von Adenosin und Fosfaton zu der deutlichen Leistungssteigerung kam.

Diese Tatsache sowie die oben erwähnte Ähnlichkeit der früher gefundenen Werte bei ATP-Zugabe mit den in Versuch 4 ermittelten legten die Vermutung nahe, dass Fosfaton bei gleichzeitiger Beeinflussung des Reaktionsgleichgewichtes durch das angebotene Adenosin die Bildung energiereicher Phosphatbindungen katalysierte, welche auf ADP übertragen wurden und dann sekundär leistungssteigernd wirkten.

Die Wirkung des Adenosin könnte auch so gedeutet werden, dass es zunächst einmal den Mangel an Bestandteilen des Adenylsäuresystems (AMP, ADP und ATP) behob,

phosphoryliert wurde und dann als Acceptor für weiter gebildetes energiereiches Phosphat fungierte.

Ihre besondere Bedeutung erhielten die Versuche dadurch, dass die Beeinflussung der Stoffwechselvorgänge durch Adenosin und Fosfaton sicherlich nicht auf die Vorgänge im Herzmuskel beschränkt ist, sondern dem ubiquitären Charakter der ATP im Organismus entsprechend universeller Natur ist.

Zusammenfassung

Am ermüdeten Froschherzen kam es bei Zugabe von Adenosin, Fosfaton und Fructose zu einer Leistungssteigerung von 22,4%. Wurden die Stoffe dem ermüdeten Herzen allein angeboten, so blieb diese Leistungssteigerung unter der statistischen Signifikanz. Es lag die Vermutung nahe, dass es sich bei der Wirkung der Stoffe um eine katalytische, speziell auf die Phosphorylierungsvorgänge, die Schaffung energiereicher Bindungen im Verlaufe des Kohlenhydratabbaues und damit die ATP-Bildung handelt. Die Konzentration der verwendeten Substanzen lag ausserhalb des pharmakologischen Wirkungsbereiches.

Die pharmakologischen Eigenschaften von ATP, Adenosin und Fosfaton

Zum Abschluss wurden Adenosin, ATP und Fosfaton hinsichtlich ihrer pharmakologischen Wirkung auf das Froschherz untersucht. Es sollte ausgeschlossen werden, dass bei den für die Stoffwechselwirkung verwendeten Konzentrationen eine pharmakologische Beeinflussung des ermüdeten Froschherzens stattgefunden haben konnte.

Adenosin zeigt bei Konzentrationen von $10^{-8} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ und $10^{-7} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ keinerlei Wirkung. Die bei $10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ eintretende negativ inotrope Wirkung - eine Hemmung von 17,2% - steigt bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ auf 57,2%. Diese negativ inotrope Wirkung ist atropinfest.

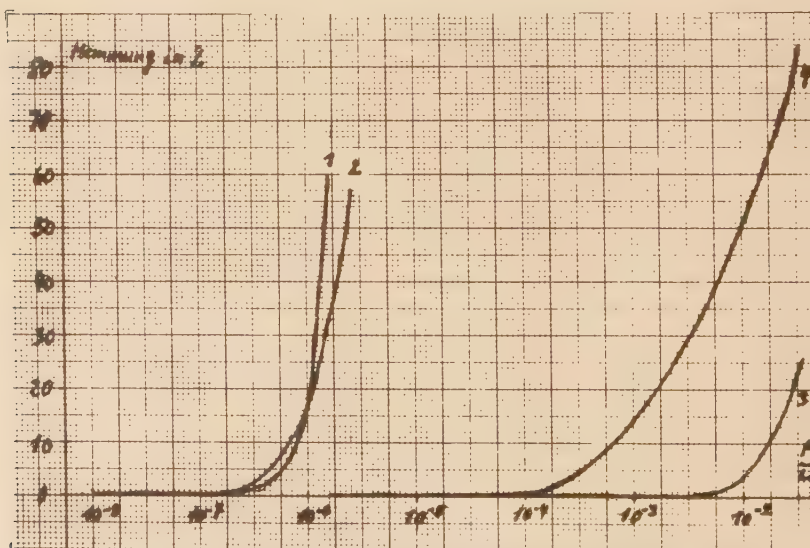


Abb. 12 Dosiswirkungskurve am Straub'schen Froschherz
1 = Adenosin, 2 = ATP, 3 = Fosfaton, 4 = Cholin
Ordinate = Hemmung der Herzleistung in %
Abszisse = molare Konzentration der untersuchten
Stoffe

Ähnlich liegen die Verhältnisse für ATP. Bei Konzentrationen von 10^{-8} und $10^{-7} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ findet sich keine Wirkung. Diese zeigt sich erst bei $10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ in einer Hemmung von 16,3%, bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ 32,9% und bei $4 \cdot 10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ in einer solchen von 54%.

Es überschneiden sich also die Kurven von ATP und Adenosin. Während Adenosin schon bei einer Konzentrationssteigerung auf das Doppelte, von 10^{-6} auf $2 \cdot 10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ eine Zunahme der Hemmung von 17,2% auf 57,2% verursacht, gelingt ein ähnlicher Effekt mit ATP erst bei einer Konzentrationssteigerung auf das Vierfache.

Zur Kontrolle wurde der Ph-Wert der höchsten verwendeten Konzentrationen bestimmt. Er betrug für ATP $4 \cdot 10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$; Ph = 7,5, für Adenosin $2 \cdot 10^{-6} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$; Ph = 7,45. Eine Beeinflussung der Herzaktion durch Änderung des Ph-Wertes konnte also ausgeschlossen werden. Auch die negativ inotrope Wirkung von ATP erwies sich als atropinfeinst.

Fosfaton zeigt am Froschherzen keine wesentliche pharmakologische Wirkung. Erst bei einer Konzentration von $10^{-2} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ setzt eine geringe negativ inotrope Wirkung ein. Die Hemmung beträgt 3,41%. Für die sehr hohe Konzentration von $5 \cdot 10^{-2} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ ergab sich eine Hemmung von nur 22,8%. Auch die Fosfatonwirkung erwies sich als atropinfeinst. Für die Fosfatonkonzentration von $5 \cdot 10^{-2} \frac{\text{Mol}}{\text{Liter}}$ wurde ein Ph-Wert von 6,8 gemessen. Die vermeintliche Fosfatonwirkung, die bei einer längeren Beobachtungszeit bald wieder abklingt, wobei die Hubhöhe ihren Ausgangswert erreicht, könnte also auf der geringfügigen Ph-Verschiebung beruhen, die vom Herzen noch kompensiert werden kann, wodurch es zu dem Wiederansteigen der Hubhöhe kommt.

Zusammenfassung

Die stoffwechselwirksamen Konzentrationen von Adenosin und Fosfaton liegen ausserhalb der pharmakologischen Wirkungsbreite der verwendeten Stoffe. Sie waren für Adenosin 100 mal schwächer, für Fosfaton sogar 500 mal schwächer als die niedrigsten pharmakologisch wirksamen Konzentrationen.

13. Krebs E.A. Ruffo A. Johnson M. et alii
Biochem. J.
204, 283 (1953)
14. Kaufmann S. in "Phosphorus Metabolism"
Bd.I J.Hopkins Press
Baltimore (1951)
15. Sanadi D.R. u. Littlefield J.W.
Fed. Proc.
11, 280 (1952)
16. Warburg O. und Christian W.
Biochem. Z.
303, 40 (1939)
17. Negelein E. u. Brömel H.
Biochem. Z.
303, 132 (1939)
18. Meyerhof O. u. Oesper P.
J. biol. Chem.
170, 1 (1947)
19. Meyerhof O. Biochem. Z.
183, 176 (1927)
20. Meyerhof O. Naturwissensch.
23, 580 (1935)
21. Euler H. v. u. Adler
Hoppe S.
235, 122 (1935)
22. Dische Z. Biochem. Z.
280, 248 (1935)
23. Ostern P. Guttke J.A. u. Terszakowec
Hoppe S.
243,9 (1936)
24. Novelli G.D. u. Lipmann F.
J. biol. Chem.
182, 213 (1950)
25. Stadtmann E.R. u. Barker H.A.
J. biol. Chem.
180, 1095, 1117 (1949)

26. Wieland, H. Verlauf der Oydations-
 vorgänge, Enke, Stuttgart 1933
27. Franke, W. i.Hdb.d.Enzymologie
 Bd.II, S.673 ff. Leipzig 1940
28. Keilin, B.D. Proc.Roy.Soc.Lond.
 104, 206 (1929)
29. Green, D.E., Atchely, W.A., Nordermann, J.
 u. Teply, J.L.
 Arch. Biochem.
 24, 359 (1949)
30. Loomits, W.F. u. Lipmann, F.
 J. biol. Chem.
 137, 807 (1948)
31. Martius, C. u. Hess, B.
 Arch. Biochem et Biophys.
 33, 486 (1951)
32. Lardy, H.A. u. Feldgott, G.
 Ann. New York Acad.Sci.
 54, 636 (1951)
33. Maley, G.F. u. Lardy, H.A.
 J. biol. Chem.
 204, 435 (1953)
34. Teply, J.L. Arch. Biochem.
 24, 383 (1949)
35. Bücher, Th. Bioch.Biophys.Acta
 1, 292 (1947)
36. Bücher, Th. Angew.Chemie
 62, 256 (1950)
37. Lehninger, A.L. J. biol. Chem.
 190, 345 (1951)
38. Lipmann, F. Adv. Enzym.
 1, 99 (1941)
39. Engelhardt, A. u. Lyubimova
 Nature
 1944, 668 (1939)

40. Caspersson, T. u. Theorell, B.
Acta phys.scand.
4, 97 (1942)
41. Baily, K. Adv. Prot. Chem.
1, 312 (1944)
42. Ardenne, M.V. u. Weber, H.H.
Kolloid. Z.
97, 322 (1941)
43. Kalckar, H. Chem. Revs.
28, 71 (1941)
44. Szent Györgyi, A. et ali
Stud. med. chem. szeged
1 (1941/4)
45. Buchtal, F., Deutsch, A. u. Knappeis, G.G.
Nature
153, 774 (1944)
46. Szent Györgyi, A. Chem. of Musk. Contr.
2.Aufl. New York
Acad. Press (1951)
47. Mommaerts, H.M Musk. Contr.
New York Interscience
48. Weber, H.H. Z.f.Elekt.-chem.
55, 511 (1951)
49. Needham, D.M Adv. Enzym.
13, 151 (1952)
50. Kalckar, H., Dehlinger, J. u. Mehler, J.
J. biol. Chem.
154, 275 (1944)
51. Sacks, J. Amer. J. of Phys.
143, 157 (1945)
52. Zetterström, R. et ali
Arch. Biochem.
25, 225 (1950)
53. Hegglin, R, Grauer, H. u. Münchinger R.
Exper.
5, 127 (1949)

54. Eggleton, P. u. Eggleton, G.P.
Biochem. J.
21, 190 (1927)
55. Lundsgard, E. Biochem. Z.
217, 152, 227 (1930)
56. Lohmann, K. Biochem. Z.
271, 264 (1934)
57. Lehmann, H. Biochem. Z.
286, 336 (1936)
58. Banga, J. Stud. Inst. med. chem.
szeged
3, 59 (1943)
59. Kornberg, A. u. Price jr, W.E.
J. biol. Chem.
182, 805 (1950)
60. Hogeboom, G.H. u. Schneider, W.C.
J. biol. Chem.
197, 611 (1952)
61. Ostern, P., Baranowski u. Hubel, S.
Hoppe S.
255, 1904 (1938)
62. Caputto, R. J. biol. Chem.
189, 801 (1951)
63. Kornberg, H. u. Price, W.E.
J. biol. Chem.
193, 481 (1951)
64. Ther, Ludwig Pharmakologische Methoden,
Enke Verlag Stuttgart 1947
65. Green, D.E., Loomits, W.F. u. Auerbach, H.
J. biol. Chem.
172, 389 (1948)
66. Hunnekens, F.M. u. Green, D.E.
Arch. Biochem.
27, 428 (1950)
67. Elliott, W.B. u. Kalnitzky, G.
J. biol. Chem.
186, 477 (1950)

68. Scheibe, O. u. Niemer, H.
Z. f. Biologie
107, 294 (1954)
69. Meyerhof, O. u. Geliazkova, N.
Arch. Biochem.
12, 405 (1947)
70. Meyerhof, O. u. Wilson, J.R.
Arch. Biochem.
14, 71 (1947)
71. Cori, G.T. und Stern, M.W.
Fed. Proc.
6, 245 (1947)
72. Stern, M.W., Cori, G.T. u. Cori, C.F.
J. biol. Chem.
186, 763 (1950)
73. Martius, C. u. Nitz-Litzow
Biochem. Bioph. Acta
12, 134 (1953)
74. Martius, C. u. Nitz-Litzow
Biochem. Bioph. Acta
13, 152 (1954)
75. Martius, C. u. Nitz-Litzow
Biochem. Bioph. Acta
13, 289 (1954)
76. Martius, C. u. Nitz-Litzow
Biochem. Z.
327, 1 (1955)
77. Meyer. E., Jütting, G. u. Schmidt, S.
M. M. W.
6, 202 (1956)

Lebenslauf

Am 6.10.1930 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. Focke Jütting und seiner Frau Grete in Gleichendorf geboren. Besuch der Volksschule von 1937 - 1941 daselbst. Humanistischer Zweig des Katharineums zu Lübeck von 1941 - 1951 mit Reifeprüfung am 24.2.1951. Vom Sommersemester 1951 bis 1957 Studium an der Medizinischen Fakultät der Universität München. Ärztliche Vorprüfung im April 1954. Seit Sommer 1954 bis Sommer 1956 wissenschaftliche Arbeiten am physiologisch-chemischen Institut der Universität München. Abschluss des Studiums mit dem Staatsexamen am 22.7.1957.

